

Sari, et al, Pengaruh Ekstrak Metanol, Fraksi N-Heksana, dan Fraksi Metanol Biji Pepaya.....

Pengaruh Ekstrak Metanol, Fraksi N-Heksana, dan Fraksi Metanol Biji Pepaya (*Carica papaya* L.) terhadap Kadar Testosteron dan Bobot Organ Reproduksi Tikus Jantan (*Effect of Methanolic Extract, N-Hexanic Fraction, and Methanolic Fraction of Papaya Seed (Carica papaya L.) on Testosterone Level and Reproduction Organs Weight in Male Rat*)

Dwi Puspita Sari, Siti Muslichah, Wiratmo
Fakultas Farmasi Universitas Jember
Jln. Kalimantan 37 Jember 68121
e-mail korespondensi: dwipusfarmasi@gmail.com

Abstract

Papaya seeds (Carica papaya L.) was known have antifertility activity. Testosterone hormone and reproduction organs weight are influence antifertility activity. This study was conducted to compare the effect of the methanolic extract, fraction of n-hexane, and fraction of methanol papaya seeds (dose 100 mg/kg BW) with testosterone level and reproduction organs weight parameters of male rats. Measurement of testosterone level by ELISA method. The observation found that the three treatment didn't decrease reproduction organs weight but decrease testosterone level compared to negative control group. Among the three treatments, metyhanolic extract and methanolic fraction decreased testosterone level. Extract and fraction of methanol alleged alkaloid content of which is known to inhibit development and count of spermatogenic cell.

Keywords: *papaya seeds, testosterone, alkaloid, organ*

Abstrak

Biji pepaya (*Carica papaya* L.) diketahui memiliki aktivitas antifertilitas. Hormon testosteron dan bobot organ reproduksi mempengaruhi aktivitas antifertilitas. Penelitian ini dilakukan untuk membandingkan pengaruh pemberian ekstrak metanol, fraksi n-heksana, dan fraksi metanol biji pepaya (dosis 100 mg/kg BB) terhadap kadar testosteron dan bobot organ reproduksi tikus jantan. Pengukuran kadar hormon testosteron dilakukan dengan metode ELISA. Hasil pengamatan kadar testosteron tikus jantan diketahui bahwa ketiga perlakuan tidak menurunkan bobot organ reproduksi. Di antara ketiga perlakuan tersebut, ekstrak metanol dan fraksi metanol mampu menurunkan kadar testosteron pada tikus jantan. Ekstrak metanol dan fraksi metanol diduga mengandung alkaloid yang dapat menurunkan kadar hormon testosteron.

Kata kunci: *biji pepaya, testosteron, alkaloid, organ*

Pendahuluan

Pertambahan jumlah penduduk Indonesia yang tidak terkendali merupakan salah satu masalah yang cukup penting. Pemerintah Indonesia berupaya menekan angka kelahiran dengan menggalakkan program Keluarga Berencana (KB) untuk [1]. Pelaksanaan KB masih menjadikan wanita sebagai sasaran

utama, sedangkan pria belum berperan aktif. Metode kontrasepsi untuk pria saat ini hanya terdapat beberapa antara lain kondom, senggama terputus, dan vasektomi. Beberapa pilihan kontrasepsi bagi pria tersebut memiliki tingkat kenyamanan yang rendah dan efek samping, seperti pada metode vasektomi yang bersifat permanen. Hal ini menyebabkan tingkat

penggunaan kontrasepsi bagi pria masih rendah [2].

Pepaya (*Carica papaya* L.) merupakan tanaman yang dapat tumbuh di Indonesia dan sering dikonsumsi oleh masyarakat luas. Biji pepaya diketahui mengandung beberapa senyawa antara lain triterpenoid, steroid, alkaloid, flavonoid, serat, karbohidrat, dan protein [3]. Biji pepaya diketahui memiliki aktivitas antifertilitas. Ekstrak biji pepaya dapat mengurangi populasi spermatogonium dan spermatosit primer tikus jantan (*Rattus norvegicus* L.) [4]. Selain itu, efek dari ekstrak air biji pepaya dapat menurunkan tingkat kesuburan tikus pada tingkat post-testikular secara signifikan [5]. Ekstrak biji pepaya juga dapat mengganggu fungsi reproduksi pada tikus jantan galur Wistar melalui poros hipofisis-gonad [6]. Pada monyet *langur*, pemberian ekstrak kloroform biji pepaya mengakibatkan azoospermia setelah 90 hari pemberian [7]. Penelitian serupa menunjukkan bahwa fraksi kromatografi benzena dari ekstrak kloroform biji pepaya menunjukkan keberhasilan kontrasepsi tanpa toksisitas yang merugikan melalui penghambatan motilitas sperma [8].

Alkaloid merupakan salah satu golongan senyawa yang terkandung dalam biji pepaya. Alkaloid pada biji pepaya diduga bertanggung jawab atas aktivitas antifertilitas dan berpengaruh terhadap kadar hormon testosteron serta bobot organ reproduksi. Mekanisme yang diduga menyebabkan adanya penurunan kadar hormon testosteron adalah alkaloid bersifat sitotoksik sehingga menghambat perkembangan dan kerja sel Leydig dalam menghasilkan hormon testosteron [7]. Selain alkaloid, triterpenoid dan steroid yang terkandung dalam biji pepaya juga berpengaruh terhadap kadar hormon testosteron dengan mekanisme penghambatan umpan balik pada hipofisis-hipotalamus untuk menurunkan produksi LH (*Luteinizing Hormone*) dan FSH (*Follicle Stimulating Hormone*) [9].

Hormon testosteron mempengaruhi proses spermatogenesis, pematangan sperma, serta berperan dalam pengaturan libido untuk mempertahankan kejantanan pria [10]. Sedangkan bobot organ reproduksi merupakan indikator adanya kerusakan sel dan disfungsi organ reproduksi. Atas informasi itulah kadar hormon testosteron perlu diteliti setelah pemberian agen antifertilitas biji pepaya.

Penelitian aktivitas antifertilitas ekstrak biji pepaya telah banyak dilakukan sehingga penelitian perlu dikembangkan terhadap fraksi-

fraksi ekstrak biji pepaya. Fraksinasi dilakukan untuk memisahkan golongan senyawa (polar dari campuran non-polar). Pemisahan ini diharapkan menghasilkan senyawa yang lebih murni sehingga dapat dibandingkan pengaruh yang timbul saat berada dalam ekstrak kasar dan dalam bentuk fraksi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak metanol, fraksi n-heksana, dan fraksi metanol biji pepaya terhadap kadar hormon testosteron dan bobot organ reproduksi.

Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan biji pepaya tua jenis Bangkok yang telah dipisahkan dari kulitnya, kemudian diserbuk, dan diayak. Bahan yang digunakan selain biji pepaya adalah pelarut metanol 70%, pelarut n-heksana, CMC-Na, kit ELISA *Testosterone* (DRG Instruments GmbH, Germany), NaCl 0,9%, dan akuades. Alat yang digunakan untuk penelitian ini adalah pisau bedah, papan fiksasi, timbangan digital analitik, maserator, corong pisah, *rotary evaporator*, tabung mikro, mikropipet, dan *Elisa reader*.

Ekstraksi biji pepaya dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut metanol. Maserasi dilakukan sebanyak tiga kali dengan masing-masing maserasi dilakukan dalam waktu 2x24 jam. Fraksinasi dilakukan dengan metode corong pisah dengan mencampurkan ekstrak kental metanol biji pepaya dengan pelarut n-heksana dengan perbandingan 1 : 1 v/v. Setelah pengocokan, corong pisah didiamkan hingga terbentuk 2 lapisan yang tidak bercampur, kemudian dipisahkan. Lapisan atas merupakan fraksi n-heksana dan lapisan bawah merupakan fraksi metanol biji pepaya. Fraksinasi dilakukan 3 kali untuk mendapatkan hasil yang lebih optimal. Ekstrak dan fraksi biji pepaya kemudian disuspensikan dengan CMC-Na 1%.

Tikus jantan galur Wistar diadaptasikan selama 3 hari dan diberi makan dan minum *ad libitum*. Tikus dibagi menjadi 4 kelompok (kontrol negatif CMC-Na 1%, ekstrak metanol biji pepaya dosis 100 mg/kg BB, fraksi n-heksana dosis 100 mg/kg BB, dan fraksi metanol biji pepaya dosis 100 mg/kg BB) dengan masing-masing kelompok terdiri dari 3 ekor tikus. Tikus diberi perlakuan selama 20 hari dan diberikan bahan uji satu kali sehari secara per oral.

Pada hari ke-21 tikus dibedah dan diambil organ testis, epididimis, vesika seminalis, dan prostat.. Organ reproduksi ditimbang

menggunakan timbangan digital analitik. Sebanyak 2 mL darah diambil dari jantung menggunakan *syringe*. Darah disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 menit. Serum yang terpisah dimasukkan kedalam tabung mikro dan disimpan dalam *freezer* suhu -20°C. Pengukuran kadar hormon testosteron dilakukan dengan perangkat ELISA. Data kadar hormon testosteron dan bobot organ yang didapatkan kemudian diuji statistik menggunakan *One-Way Anova* dan dilanjutkan uji *Post Hoc Test* dengan mengamati nilai LSD untuk mengetahui kelompok yang memiliki perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$).

Hasil Penelitian

Rendemen ekstrak kental metanol biji pepaya yang didapatkan sebesar 9,02%. Rendemen fraksi n-heksana biji pepaya yang didapat sebesar 18,17%, sedangkan rendemen fraksi metanol biji pepaya yang didapat sebesar 20,29%.

Rata-rata kadar hormon testosteron pada masing-masing perlakuan yang ditampilkan pada Gambar 1 menunjukkan adanya penurunan dibandingkan kelompok kontrol negatif yang hanya diberi CMC-Na 1%.

Gambar 2 menunjukkan hasil penimbangan bobot testis, epididimis, dan vesika seminalis dan prostat pada kelompok perlakuan memiliki rata-rata persen bobot organ relatif berat badan yang lebih rendah dibanding kelompok kontrol negatif.

Hasil uji *Post Hoc Test* menunjukkan adanya perbedaan signifikan antara kelompok perlakuan ekstrak metanol dan fraksi metanol biji pepaya terhadap kontrol negatif. Uji statistik *One-Way Anova* pada rata-rata persen bobot organ menunjukkan nilai $p > 0,05$ yang memiliki arti bahwa tidak terdapat penurunan bobot organ reproduksi.

Pembahasan

Hormon testosteron berpengaruh terhadap aktivitas antifertilitas karena hormon testosteron merupakan hormon yang berperan dalam proses produksi sperma. Hormon testosteron mempengaruhi jumlah dan kualitas sperma yang dihasilkan. Hormon testosteron diperlukan pria untuk mempertahankan kejantanan sehingga kadarnya diharapkan dalam batas normal saat dan setelah menggunakan kontrasepsi [10].

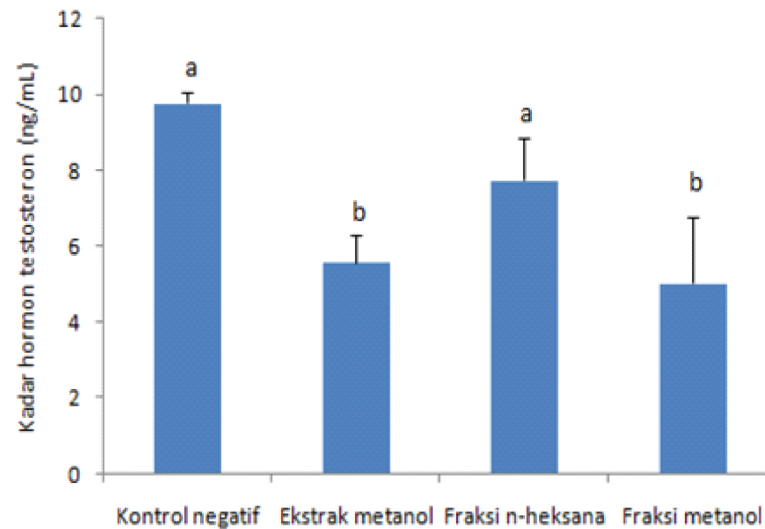
Kadar testosteron yang lebih rendah pada kelompok perlakuan ekstrak metanol dan fraksi

metanol biji pepaya bila dibandingkan kelompok kontrol negatif disebabkan adanya kandungan senyawa kimia dalam biji pepaya yang bersifat sitotoksik dan mempengaruhi fertilitas hewan coba jantan. Efek sitotoksik ini akan menyebabkan metabolisme sel spermatogenik terganggu [7]. Ekstrak metanol biji pepaya diduga mengandung alkaloid, triterpenoid, dan steroid dalam biji pepaya mengingat pelarut metanol merupakan pelarut universal yang dapat menarik sebagian besar senyawa-senyawa kimia yang dikandung oleh suatu simplisia [9,11]. Fraksi n-heksana biji pepaya kemungkinan mengandung sebagian besar steroid dan triterpenoid karena sifat pelarut n-heksana yang nonpolar namun steroid dan triterpenoid yang terlarut didalam pelarut n-heksana tidak menurunkan kadar hormon testosteron. Fraksi metanol biji pepaya mampu menurunkan kadar testosteron diduga karena adanya alkaloid yang terkandung didalam fraksi metanol sehingga dapat memberikan aktivitas antifertilitas [11].

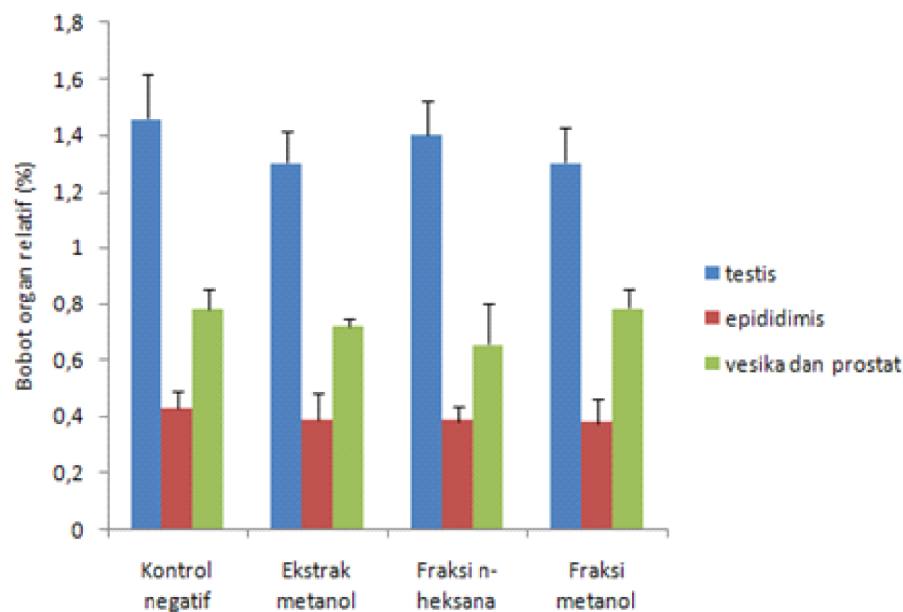
Alkaloid yang terdapat pada biji pepaya adalah carpain. Carpain merupakan alkaloid bercincin lakton dengan rumus kimia $C_{14}H_{25}NO_2$ [12]. Alkaloid dalam biji pepaya diketahui dapat menyebabkan degenerasi sel sperma serta menurunkan jumlah sel sperma [6]. Hal ini mengindikasikan bahwa gangguan selama proses spermatogenesis sebagai akibat dari adanya alkaloid pada biji pepaya. Alkaloid biji pepaya juga dapat menghambat kerja maupun perkembangan sel leydig [13]. Bila kerja sel leydig terhambat maka jumlah testosteron yang dihasilkan menurun sehingga kemampuan testosteron untuk merangsang sel sertoli untuk melakukan proses spermatogenesis juga berkurang [10].

Kadar hormon testosteron pada kelompok perlakuan fraksi n-heksana biji pepaya tidak lebih rendah dibandingkan kelompok kontrol negatif. Kandungan triterpenoid dan steroid dalam biji pepaya tidak menghambat umpan balik pada hipotalamus dan hipofisis, sehingga pelepasan FSH dan LH berjalan normal.

Kadar hormon testosteron antara kelompok ekstrak metanol dan fraksi metanol yang berbeda bila dibandingkan dengan kadar hormon testosteron kelompok fraksi n-heksana menandakan bahwa senyawa aktif dalam fraksi metanol dan ekstrak metanol biji pepaya lebih poten sehingga kerja dari alkaloid akan lebih optimal dalam menurunkan kadar hormon testosteron.



Gambar 1 Kadar hormon testosteron kelompok perlakuan \pm SD
Ket: Perbedaan notasi menunjukkan perbedaan bermakna ($p < 0,05$)



Gambar 2 Bobot organ reproduksi kelompok perlakuan \pm SD
Ket: Tidak ada perbedaan bobot organ yang bermakna antar kelompok perlakuan

Sebagai agen antifertilitas, ekstrak metanol dan fraksi metanol biji pepaya diharapkan mampu menurunkan kadar testosteron namun masih dalam rentang normal. Rentang normal testosteron dalam serum pria dewasa yaitu 3-10 ng/mL [16]. Testosteron sebagai hormon bertanggung jawab atas

peningkatan maupun penurunan libido. Libido merupakan dorongan naluri kreatif untuk mendapatkan kepuasan seksual dan merupakan hal yang penting dalam kehidupan seksual pria, sehingga untuk dapat mempertahankan libido, kadar testosteron diupayakan untuk tetap dalam rentang normal [10].

Penurunan bobot organ reproduksi menjadi indikator terjadinya gangguan pada reproduksi [17]. Bobot testis yang lebih rendah dari kontrol negatif dapat disebabkan oleh terganggunya pertumbuhan dan perkembangan sel-sel spermatogenik dalam organ reproduksi jantan. Diduga pemberian ekstrak metanol, fraksi n-heksana, dan fraksi metanol biji pepaya mengakibatkan terhambatnya perkembangan sel leydig dan berkurangnya jumlah sel leydig [18]. Bobot organ epididimis yang lebih rendah dibanding kontrol negatif diduga disebabkan penurunan jumlah spermatozoa dalam epididimis [19], terdegenerasinya spermatozoa [5], adanya vakuola kosong pada epitel epididimis, dan penurunan ukuran tubulus pada epididimis [18]. Bobot vesika seminalis dan prostat dari pada kontrol negatif diduga akibat rendahnya kadar testosteron yang menyebabkan terhambat spermatogenesis dalam testis dan mengganggu perkembangan struktur vesika seminalis serta produksi sel prostat [20].

Simpulan dan Saran

Berdasarkan hasil dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa ekstrak metanol dan fraksi metanol biji pepaya dengan dosis 100 mg/kg BB berpengaruh terhadap penurunan kadar hormon testosteron, namun penurunan tersebut masih dalam rentang normal testosteron dalam tubuh. Berdasarkan hasil pengamatan maka penulis menyarankan adanya penelitian lebih lanjut tentang pengaruh terhadap perilaku seksual dan dilakukan skrining atau isolasi untuk mengetahui senyawa aktif yang berpengaruh terhadap penurunan kadar hormon testosteron.

Ucapan Terima Kasih

Ucapan terima kasih ditujukan kepada DIKTI yang telah mendanai penelitian ini melalui Program Hibah Bersaing 2013.

Daftar Pustaka

- [1] Badan Kependudukan dan Keluarga Berencana Nasional [Internet]. Jakarta : Badan Kependudukan dan Keluarga Berencana Nasional; 2013 [cited 2014 January 10] Available from : [tp://www.bkkbn.go.id/ViewBerita.aspx?BeritaID=829](http://www.bkkbn.go.id/ViewBerita.aspx?BeritaID=829) [ht](#)
- [2] Sumaryati A. Tahun ini KB laki-laki mulai digalakkan [Internet]. Jakarta: 2004 [cited 2014 March 1] Available from: http://www.bkkbn.go.id/article_detail.php
- [3] Yurnadi, Sari, Pujiyanto, Soeradi. Pengaruh penyuntikan ekstrak biji pepaya (*Carica papaya* L.) terhadap konsentrasi spermatozoa dan keadaan sel spermatogenik tikus jantan (*Rattus norvegicus*) strain LMR. *Maj Kedokt Ind*. 2001; 5 (1): 19-25.
- [4] Verma RJ, Chinoy NG. Effect of papaya seed extract on microenvironment of cauda epididymis. *Asian J Androl*. 2001; 3.
- [5] Udoh P, Essien I, Udoh F. Effects of *Carica papaya* (paw-paw) seed extract on the morphology of pituitary-gonadal axis of male wistar rats. *Phytoth Res*. 2005; 19: 1065-1068.
- [6] Lohiya, Manivannan, Mishra, Pathak, Sriram, Bhande, Panerdoss. Chloroform extract of *Carica papaya* seeds induces long-term reversible azoospermia in Langur monkey. *Asian J Androl*. 2002; 4 (1): 17-26.
- [7] Lohiya MK, Manivannan B, Goyal, Ansari. Sperm motility inhibitory effect of the benzene chromatographic fraction of the chloroform extract of the seeds of *Carica papaya* in Langur monkey (*Presbytis entellus*). *Asian J Androl*. 2008; 10: 298-306.
- [8] Sukadana IM, Santi SR, Juliariti NK. Aktivitas antibakteri senyawa golongan triterpenoid dari biji pepaya (*Carica papaya* L.). *J Kimia*. 2008; 2(1): 15-18.
- [9] Guyton AC, John E. Buku ajar fisiologi kedokteran. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC; 1997.
- [10] Satriyasa BK, Pangkahila WI. Fraksi heksan dan fraksi metanol ekstrak biji pepaya muda menghambat spermatogonia Mencit (*Mus Musculus*) Jantan. *J Veteriner*. 2010; 11 (1): 36-40.
- [11] Burdick EM. Carpine an alkaloid of *Carica papaya* its chemistry and pharmacology. *Economic botany*. 1971; 24 (4): 363-365.
- [12] Udoh P, Kehinde A. Studies on antifertility effect of pawpaw seeds

- (*Carica papaya*) on the gonads of male albino rats. *Phytoth Res.* 1999; 13 (3): 226-228.
- [13] Lohiya NK. Contraceptive evaluation and toxicological study of aqueous extract of the seeds of *Carica papaya* in male rabbits. *J Ethn.* 2000; 70: 17-27.
- [14] Lohiya NK, Sharma OP. Effects of cyproterone acetate with combination of testosterone enanthate on seminal characteristics, androgenicity and clinical chemistry in Langur monkey. *Contraception.* 1983; 28: 575-86.
- [15] Bella A, Tom F. Smith's General Urology Male Sexual Dysfunction. California: Mc Graw Hill Companies; 2008.
- [16] Zenick, Clegg. Principles and methods of toxicology. New York: Raven Press; 1989.
- [17] Lohiya NK, Mishra PK, Pathak N, Manivannan B, Bhande SS, Panerdoss S, Sriram S. Efficay trial of purified compounds of the seeds of *Carica papaya* for male contraception in albino rat. *Reprod Toxicol.* 2005; 20 (1): 135-48.
- [18] Pathak N, Mishra PK, Manivannan B, Lohiya NK. Sterility due to inhibition of sperm motility by oral administration of benzene chromatographic fraction of thechloroform extract of the seeds of *Carica papaya* in rats. *Phytomedicine.* 2000; 7: 325-333.
- [19] Gonzales, GF. Function of seminal vesicle and their role on male fertility. *Asian J Androl.* 2001; 3.